

Received: 16.02.2022 / Accepted: 07.04.2022

ARTYKUŁ ORYGINALNY

## Występowanie grzybów entomopatogenicznych w glebach murszowo-glejowych doliny rzecznej Liwca

### Occurrence of entomopathogenic fungi in muck-glial soils of the Liwiec river valley

Anna Majchrowska-Safaryan\*

#### Streszczenie

Dla zachowania różnorodności biologicznej mikroorganizmów glebowych, w tym grzybów entomopatogenicznych będących naturalnymi wrogami szkodników, ogromne znaczenie mają obszary, które w jak najmniejszym stopniu podlegają przekształceniom antropogenicznym. Takimi obszarami mogą być doliny rzeczne. Celem pracy było rozpoznanie rodzajów grzybów entomopatogenicznych, a także zbadanie nasilenia ich występowania w wierzchnich poziomach genetycznych łąkowych gleb murszowo-glejowych położonych w dolinie rzeki Liwiec. Materiał do badań stanowiły próby gleby pobrane w dwóch terminach, w październiku 2018 i maju 2019 roku, w dolinie górnego biegu rzeki Liwiec. Grzyby owadobójcze izolowano z poszczególnych poziomów genetycznych badanych gleb stosując metodę posiewu na podłoże selektywne. W trakcie badań wyizolowano grzyby owadobójcze z rodzaju: *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Isaria* spp. i *Lecanicillium* spp., przy czym w terminie jesiennym stwierdzono obecność tylko rodzaju *Beauveria* spp. oraz *Lecanicillium* spp. Najwięcej jednostek infekcyjnych tworzyły grzyby z rodzaju *Beauveria* spp., a największe nasilenie ich występowania stwierdzono w poziomach darniowych badanych gleb.

**Słowa kluczowe:** grzyby owadobójcze, gleba murszowo-glejowa, dolina Liwca

#### Abstract

For the preservation of biological diversity of soil microorganisms, including entomopathogenic fungi which are natural enemies of pests, areas that are subject to anthropogenic transformation as little as possible are of great importance. River valleys may be such areas. The aim of the study was to identification of types of entomopathogenic fungi, as well as to investigate the intensity of their occurrence in the upper genetic levels of meadow muck-glial soils located in the Liwiec river valley. The material for the research was soil samples collected in October 2018 and May 2019, in the upper reaches of the Liwiec river. Insecticidal fungi were isolated from individual genetic levels of the soils under study using the selective substrate isolation method. In the course of the research, insecticidal fungi of the genus were isolated: *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Isaria* spp. and *Lecanicillium* spp., with only *Beauveria* spp. and *Lecanicillium* spp. being found in the autumn. The greatest number of infection units was formed by the fungus *Beauveria* spp. and the greatest intensity of its occurrence was found in the turf level of the soils studied.

**Key words:** entomopathogenic fungi, muck-glial soils, Liwiec river

---

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach  
Wydział Agrobiotechnologii i Nauk o Zwierzętach  
Instytut Rolnictwa i Ogrodnictwa  
ul. Bolesława Prusa 14, 08-110 Siedlce

\*corresponding author: anna.majchrowska-safaryan@uph.edu.pl  
ORCID: 0000-0002-1931-8508

## Wstęp / Introduction

Intensywne stosowanie środków chemicznych w ochronie roślin wpływa na coraz większe zanieczyszczenie środowiska glebowego pozostałościami pestycydów, jak również powoduje wzrost odporności owadów na wykorzystywane insektycydy. Kraje Unii Europejskiej zmierzają do zmniejszenia wykorzystywania chemicznych środków ochrony roślin w gospodarstwach rolniczych oraz leśnych, co związane jest z wdrażaniem strategii „Od pola do stołu” (Augustyniak-Kram 2010; Ginter 2021). Jedną z najbardziej przyjaznych dla środowiska przyrodniczego metod ochrony roślin jest metoda biologiczna (Lipa 2000), która polega na wykorzystywaniu naturalnych zjawisk zachodzących w przyrodzie wśród organizmów żywych, a mianowicie pasożytnictwa i drapieżnictwa. Wśród biopestycydów wykorzystywanych do ograniczania populacji szkodników znajdują się także środki, do produkcji których wykorzystywane są grzyby entomopatogeniczne zdolne do infekowania organizmów szkodliwych dla roślin i wywoływania objawów chorobowych często na masową, epidemiczną skalę (Sosnowska 2005, 2019; Augustyniak-Kram 2010). Mechanizm działania grzybów pasożytniczych dla owadów składa się z kilku etapów: adhezji (przylegania) zarodników do powierzchni ciała owadów, rozwoju grzyba na powierzchni kutikuli, przeniknięcia do wnętrza jamy ciała poprzez kutikulę, wtargnięcia do wnętrza ciała owada i kolonizacji jego organów wewnętrznych (Sosnowska 2019). Dotychczas prowadzone badania opisują możliwość ich zastosowania w walce ze szkodnikami gospodarki leśnej oraz rolnej, jak również upraw pod osłonami (Sosnowska i Lindquist 1994; Sosnowska i Piątkowski 1996; Fiedler i wsp. 2002; Tkaczuk i wsp. 2016; Dannon i wsp. 2020; Balla i wsp. 2021; Kumar i wsp. 2021). Konieczne jest także prowadzenie badań ekologicznych określających skład gatunkowy oraz nasilenie występowania grzybów owadobójczych w agrocenozach (Jaworska i Dudek 1992). Gleba, w której bytują grzyby owadobójcze jest miejscem zapewniającym im dobre schronienie środowiskowe (Bałazy 2006; Tkaczuk 2008), chroniącym je przed promieniowaniem słonecznym i wysoką temperaturą (Vega i wsp. 2009). Jednymi z najczęściej izolowanych grzybów entomopatogenicznych, które skutecznie ograniczają populację szkodników występujących w glebach uprawnych są grzyby z rodzaju *Beauveria*, *Metarhizium* i *Isaria* (Tkaczuk 2008; Jarmuł-Pietraszczyk i wsp. 2013; Van der Weerden i wsp. 2013). Rozwojowi grzybów entomopatogenicznych służą tereny silnie uwilgotnione, takie jak: lasy, łąki, zadrzewienia oraz szuwały (Sosnowska 2013).

W rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 z dnia 21 października 2009 r. (Dz.U. L 309 z 24.11.2009, s. 1) czytamy, że „w celu zapewnienia wysokiego poziomu ochrony zdrowia ludzi i zwierząt oraz środowiska, środki ochrony roślin powinny być stosowa-

ne w sposób właściwy, zgodnie z wydanym zezwoleniem z uwzględnieniem zasad integrowanej ochrony roślin, przy czym zawsze gdy jest to możliwe, priorytetowo należy traktować niechemiczne i naturalne rozwiązania alternatywne”. Najważniejszym celem tych norm jest w głównej mierze ochrona środowiska naturalnego. W Polsce lista zarejestrowanych bioinsektycydów zawierających w swoim składzie grzyby owadobójcze jest nadal niewielka i są one głównie wykorzystywane w ochronie upraw pod osłonami. Zarejestrowane środki to między innymi Preferal oparty na grzybie owadobójczym *Isaria fumosorosea* szczep Apopka 97, Met 52 i 1020, którego substancją czynną jest grzyb owadobójczy *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* szczep F52, a także bioinsektycyd Naturalis oparty na gatunku *Beauveria bassiana* szczep ATCC74040 (Sosnowska 2018, 2019). Z szacunków ekspertów branżowych wynika, że środki biologiczne w Polsce stanowią zaledwie 2,5% wśród wszystkich zarejestrowanych środków ochrony roślin (Kalinowski 2021).

Ogromne znaczenie dla zachowania różnorodności mikroorganizmów, w tym grzybów entomopatogenicznych mają obszary niewykorzystane rolniczo, zbiorniki wodne i zadrzewienia. Skład gatunkowy grzybów owadobójczych w glebach ze środowisk seminaturalnych, różni się od grzybów występujących w glebach, na których są prowadzone intensywne metody uprawy roli (Miętkiewski i wsp. 1992; Bałazy 2004; Tkaczuk 2008).

W Polsce na terenach bagiennych coraz częściej obserwuje się niekorzystne przekształcenia gleb organicznych i roślinności bagiennej. Za przyczynę tego zjawiska uznaje się głównie zmiany w reżimie hydrologicznym oraz obniżenie poziomu wód gruntowych wynikające z działalności człowieka, jak również warunki pogodowe. Przekształcanie warunków hydrologicznych wpływa na decesję gleb torfowo-murszowych oraz zwiększa ich podatność na przesuszenie (Mioduszewski 2004). Pod wpływem procesu murszenia torfowisk związanego z odwodnieniem w glebach organicznych zachodzą zmiany fizyczne i chemiczne. Zwiększenie napowietrzenia gleby pobudza procesy biologiczne, czego skutkiem jest wtórna humifikacja oraz mineralizacja substancji organicznych. Skutkuje to rozwojem mikroorganizmów, które oddziałują na roślinność oraz na całe siedlisko (Badura 2003).

Celem pracy było rozpoznanie rodzajów grzybów entomopatogenicznych oraz określenie nasilenia ich występowania w terminie jesiennym i wiosennym w wierzchnich poziomach genetycznych gleb murszowo-glejowych położonych w dolinie rzeki Liwiec.

## Materiały i metody / Materials and methods

Materiał do badań stanowiły próby gleby pobrane w październiku 2018 i maju 2019 roku, w dolinie górnego biegu rzeki Liwiec na terenie miejscowości Klimonty, gmina

Mordy, powiat siedlecki o współrzędnych geograficznych 52°10'48"N i 22°31'39"E. Obszar ten reprezentuje jeden z najważniejszych obszarów mokradłowych Wysoczyzny Siedleckiej (Dembek i wsp. 2000; Becher 2013). W trakcie prac terenowych wykonano 5 odkrywek glebowych oraz ustalono poziomy genetyczne według zasad obowiązującej Systematyki Gleb Polski (SPG 2011). Gleby te zakwalifikowano do rzędu gleb glejoziemnych, typ gleba glejowa, podtyp gleba murszowo-glejowa (odkrywki 1–4) i gleba murszowata (odkrywka 5).

Próby materiału glebowego pobrano z poszczególnych poziomów genetycznych wykonanych profili glebowych gleb łąkowych wzdłuż transektu wyznaczonego w poprzek najszerszej części doliny. Grunty te stanowiły 2 i 3 kompleks trwałych użytków zielonych.

W laboratorium Zespołu badawczego Chemii Środowiska, Gleby i Nawożenia Roślin Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach oznaczono metodami powszechnie stosowanymi w badaniach próbek glebowych następujące właściwości chemiczne gleb: odczyn w roztworze 1 M KCl (metoda potencjometryczna), całkowitą zawartość węgla (Ct, wyrażoną w %) i całkowitą zawartość azotu (Nt, wyrażoną w %) (Mocek i wsp. 2000; Bednarek i wsp. 2004). Wyniki badań próbek glebowych przedstawiono w tabeli 1.

Grzyby owadobójcze izolowano z poszczególnych poziomów genetycznych badanych gleb stosując metodę izolacji na podłoże selektywne opracowaną przez Strassera i wsp. (1996).

Izolację grzybów owadobójczych z badanych gleb przeprowadzono za pomocą podłoża selektywnego o następującym składzie: 20 g glukozy, 10 g peptonu, 18 g agaru, które zostały rozpuszczone w 1 l wody destylowanej, a następnie sterylizowane w autoklawie w temperaturze 120°C przez 20 minut. Do przygotowanego w ten sposób podłoża po schłodzeniu go do temperatury 50°C dodano składniki selektywne: 0,6 g streptomycyny, 0,05 g tetracykliny i 0,1 g dodyny. Podłoże selektywne rozlano do szalek Petriego. Z próby glebowej pobranej z danego poziomu genetycznego odważono po 2 g gleby, a następnie zalano 18 ml wody destylowanej z dodatkiem środka zmniejszającego napięcie powierzchniowe – Triton X–100. Za pomocą automatycznej pipety pobierano 0,1 ml roztworu glebowego i przenoszono na powierzchnię podłoża selektywnego. Roztwór rozprowadzano po powierzchni podłoża przy użyciu sterylnej szklanej szpatułki. Posiewy wykonano w trzech powtórzeniach dla każdej próby glebowej. Szalki z naniesionym roztworem glebowym przeniesiono do komory cieplnej o temperaturze 21°C przy braku światła i po 10 dniach obliczono liczbę rozwijających się na podłożu hodowlanym kolonii (CFU

**Tabela 1.** Odczyn oraz zawartość węgla i azotu w poziomach organicznych gleb murszowo-glejowych  
**Table 1.** Reaction and carbon and nitrogen content in the levels of organic muck glial soils

Profil Profile	Głębokość Depth [cm]	Symbol i cechy morfologiczne Symbol and morphological characteristics	Jesień – Autumn			Wiosna – Spring		
			pH	Ct – C-tot.	Nt – N-tot.	pH	Ct – C tot.	N – N-tot.
			1 M KCl	[%]		1 M KCl	[%]	
1	0–10	M1 – poziom darniowy M1 – turf level	5,93	32,5	3,19	5,99	31,3	3,21
	10–20	M2 – mursz M2 – rotting wood	6,09	31,9	2,33	6,12	29,8	2,41
2	0–10	M1 – poziom darniowy M1 – turf level	5,64	32,7	3,19	5,70	32,1	3,17
	10–20	M2 – mursz M2 – rotting wood	6,02	40,5	2,70	6,00	41,0	2,80
3	0–8	M1 – mursz M1 – rotting wood	5,67	33,8	3,23	5,77	34,0	3,30
	8–30	M2 – mursz M2 – rotting wood	5,98	39,9	2,56	6,00	39,6	2,48
4	0–12	M – poziom darniowy M – turf level	5,91	28,7	2,86	5,82	27,1	2,89
	12–20	Au – poziom murszasty Au – mossy level	6,03	5,80	0,46	6,08	5,95	0,42
5	0–5	M1 – poziom darniowy M1 – turf level	5,33	19,3	1,70	5,45	20,0	1,71
	5–15	M2 – mursz M2 – rotting wood	5,49	8,63	0,73	5,50	8,56	0,77

– colony forming unit) grzybów entomopatogenicznych. W końcowym etapie doświadczenia dokonano przeliczenia jednostek tworzących kolonie grzybów (CFU) w 1 gramie suchej gleby. Grzyby owadobójcze zidentyfikowano mikroskopowo zgodnie z morfologią mikrostruktur. Charakterystykę izolatów grzybów przeprowadzono przez określenie wielkości i kształtu konidiów, komórek konidiogennych oraz morfologii kolonii (Rehner i Buckley 2005; Rehner i wsp. 2011; Humber 2012; Inglis i wsp. 2012). Biorąc pod uwagę, że do identyfikacji grzybów stosowano wyłącznie metody morfologiczne, zostały one przypisane do rangi rodzaju, ponieważ jak wykazały najnowsze badania filogenetyczne oparte na sekwencjonowaniu DNA (Bischoff i wsp. 2006, 2009; Kepler i wsp. 2017), istnieje wiele gatunków grzybów w obrębie rodzaju *Beauveria*, *Isaria*, *Metarhizium* i *Lecanicillium*, których rozróżnienie jest prawie niemożliwe bez zastosowania metod molekularnych.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie z wykorzystaniem programu Statistica 13.3 TIBCO Software Inc. Obliczono współczynniki korelacji prostych dla badanych parametrów glebowych i oznaczonych rodzajów grzybów entomopatogenicznych oraz wyznaczono równania regresji. Przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA) czynników głównych i post-hoc test Tukeya. Wyliczone średnie połączono w jednorodne grupy na poziomie istotności  $\alpha < 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Przeprowadzone badania wykazały, iż oznaczone rodzaje grzybów entomopatogenicznych oraz nasilenie ich występowania w badanych poziomach gleb mineralno-organicznych, uzależnione było od badanego poziomu genetycznego, z którego została pobrana próba glebowa oraz terminu pobrania materiału do analizy (tab. 2, 3). Badania prowadzone przez Storey i wsp. (1989) wykazały, że w glebach bogatych w materię organiczną populacja grzybów entomopatogenicznych, a w szczególności grzyba *B. bassiana* jest wyższa, co wiąże się także z ich zdolnością do rozwoju w fazie saprofitycznej.

W jesiennym terminie badań z każdego profilu glebowego badanych gleb łąkowych położonych wzdłuż transektu pobrano materiał z dwóch poziomów genetycznych. Izolacja grzybów entomopatogenicznych na podłożu selektywnym wykazała, iż w badanych próbach materiału glebowego stwierdzono występowanie grzybów owadobójczych należących do dwóch rodzajów *Beauveria* spp. i *Lecanicillium* spp. (tab. 2). Niektórzy autorzy twierdzą, że w glebach które zawierają znaczną zawartość substancji organicznej, grzyby owadobójcze które są patogenami stawonogów wykazują niższą aktywność i przeżywalność, tłumacząc to większą aktywnością biologiczną takich gleb i obecnością dużej

**Tabela 2.** Oznaczone rodzaje oraz liczba jednostek tworzących kolonie grzybów entomopatogenicznych [CFU  $\times 10^3$  g<sup>-1</sup>] w poziomach organicznych gleb murszowo-glejowych (termin jesienny)

**Table 2.** Identifies types and number of colony forming units of entomopathogenic fungi [CFU  $\times 10^3$  g<sup>-1</sup>] in the levels of organic muck glial soils (autumn date)

Profil Profile	Głębokość Depth [cm]	Symbol i cechy morfologiczne Symbol and morphological characteristics	Rodzaj grzyba – Type of fungus			
			<i>Beauveria</i> spp.	<i>Metarhizium</i> spp.	<i>Isaria</i> spp.	<i>Lecanicillium</i> spp.
1	0–10	M1 – poziom darniowy M1 – turf level	1,3 $\pm$ 0,20	–	–	0,6 $\pm$ 0,16
	10–20	M2 – mursz M2 – rotting wood	0,6 $\pm$ 0,08	–	–	0,5 $\pm$ 0,08
2	0–10	M1 – poziom darniowy M1 – turf level	1,0 $\pm$ 0,16	–	–	0,7 $\pm$ 0,05
	10–20	M2 – mursz M2 – rotting wood	0,8 $\pm$ 0,08	–	–	0,3 $\pm$ 0,00
3	0–8	M1 – mursz M1 – rotting wood	0,7 $\pm$ 0,24	–	–	0,5 $\pm$ 0,08
	8–30	M2 – mursz M2 – rotting wood	0,3 $\pm$ 0,08	–	–	0,3 $\pm$ 0,16
4	0–12	M – poziom darniowy M – turf level	2,8 $\pm$ 0,16	–	–	0,5 $\pm$ 0,08
	12–20	Au – poziom murszasty Au – mossy level	0,8 $\pm$ 0,16	–	–	0,2 $\pm$ 0,08
5	0–5	M – poziom darniowy M – turf level	0,5 $\pm$ 0,08	–	–	2,0 $\pm$ 0,02
	5–15	Au – poziom murszasty Au – mossy level	0,5 $\pm$ 0,02	–	–	0,2 $\pm$ 0,00

$\pm$  SD – odchylenie standardowe – standard deviation

**Tabela 3.** Oznaczone rodzaje oraz liczba jednostek tworzących kolonie grzybów entomopatogenicznych [CFU × 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>] w poziomach organicznych gleb murszowo-glejowych (termin wiosenny)**Table 3.** Identifies types and number of colony forming units of entomopathogenic fungi [CFU × 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>] in the levels of organic muck-glial soils (spring date)

Profil Profile	Głębokość Depth [cm]	Symbol i cechy morfologiczne Symbol and morphological characteristics	Rodzaj grzyba – Type of fungus			
			<i>Beauveria</i> spp.	<i>Metarhizium</i> spp.	<i>Isaria</i> spp.	<i>Lecanicillium</i> spp.
1	0–10	M1 – poziom darniowy M1 – turf level	1,6 ± 0,14	0,5 ± 0,14	0,2 ± 0,02	0,5 ± 0,04
	10–20	M2 – mursz M2 – rotting wood	1,1 ± 0,12	0,2 ± 0,00	0,1 ± 0,08	0,2 ± 0,01
2	0–10	M1 – poziom darniowy M1 – turf level	1,8 ± 0,21	0,6 ± 0,08	0,5 ± 0,09	0,5 ± 0,13
	10–20	M2 – mursz M2 – rotting wood	1,2 ± 0,16	0,1 ± 0,07	0,3 ± 0,04	0,5 ± 0,01
3	0–8	M1 – mursz M1 – rotting wood	0,9 ± 0,17	0,5 ± 0,00	0,3 ± 0,12	0,7 ± 0,13
	8–30	M2 – mursz M2 – rotting wood	0,6 ± 0,17	0,5 ± 0,21	–	0,2 ± 0,01
4	0–12	M – poziom darniowy M – turf level	3,6 ± 0,16	0,5 ± 0,08	0,2 ± 0,08	0,2 ± 0,00
	12–20	Au – poziom murszasty Au – mossy level	1,7 ± 0,20	0,3 ± 0,01	–	0,2 ± 0,02
5	0–5	M – poziom darniowy M – turf level	0,9 ± 0,16	0,3 ± 0,08	0,3 ± 0,01	0,2 ± 0,01
	5–15	Au – poziom murszasty Au – mossy level	0,8 ± 0,16	0,2 ± 0,04	–	0,3 ± 0,08

± SD – odchylenie standardowe – standard deviation

liczby mikroorganizmów antagonistycznych (Vänninen i wsp. 2000; Kessler i wsp. 2004). Najwięcej jednostek CFU grzyba *Beauveria* spp. 2,8·CFU × 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> stwierdzono w poziomie darniowym na głębokości 0–12 cm gleby profilu 4, natomiast grzyba *Lecanicillium* spp. w poziomie darniowym profilu 5 – 2,0·CFU × 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> leżących w środkowej części wytyczonego transektu.

W wiosennym terminie badań, gdzie próby glebowe pobrano w maju, stwierdzono występowanie grzybów entomopatogenicznych należących do rodzajów: *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Isaria* spp. oraz *Lecanicillium* spp. (tab. 3). Gottwald i Tedders (1984) podają, że gleby bogate w substancję organiczną cechują się większym zróżnicowaniem gatunkowym i zagęszczeniem stawonogów, będących potencjalnymi gospodarzami entomopatogenów. Obecność rodzaju *Beauveria* spp. stwierdzono we wszystkich profilach badanych gleb łąkowych, przy czym najwięcej jednostek tworzących kolonię oznaczono w profilu nr 4 – poziom darniowy (3,6·CFU × 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>). W terminie tym w badanych próbach glebowych stwierdzono obecność grzybów z rodzaju *Metarhizium* spp., a liczba jednostek tworzących kolonię wynosiła od 0,2 do 0,6·CFU × 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>. Badania prowadzone przez Kin i wsp. (2017) wskazują, iż gleby torfowe cechują się

niższą wartością pH oraz większą zawartością wody, co powoduje obniżenie ich temperatury, stwarzając tym samym warunki glebowe mniej korzystne dla grzybów entomopatogenicznych z rodzaju *Metarhizium*. Stwierdzili oni w glebie torfowej pobranej z plantacji palmy olejowej w Malezji stopień izolacji grzyba *M. anisopliae* na poziomie 22%, natomiast w glebie mineralnej na poziomie 50%. Wyniki te korespondują z wnioskami Vänninena i wsp. (2000), którzy stwierdzili, że czynnikiem istotnie wpływającym na występowanie i zagęszczenie jednostek infekcyjnych grzyba *M. anisopliae* jest temperatura gleby. Grzyby z rodzaju *Isaria* spp. rozpoznano w próbach glebowych z poziomów darniowych badanych profili glebowych (0,2–0,5·CFU × 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>), a także w poziomie murszu gleby profilu 2 i 3 stanowiąc 0,3·CFU × 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>. W badanych próbach glebowych ilość jednostek CFU grzyba *Lecanicillium* spp. wynosiła od 0,2 do 0,7·CFU × 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>, przy czym najwięcej tych jednostek stwierdzono w glebie położonej najbliżej głównego koryta Liwca, profil 3 w poziomie murszu M1.

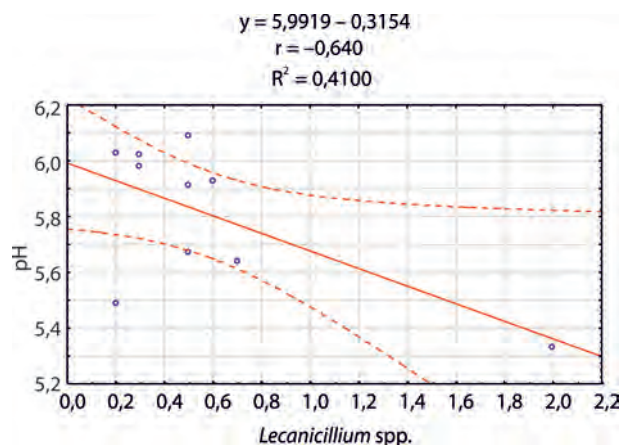
Przeprowadzono analizę współczynników korelacji prostej dla rozpoznanych rodzajów grzybów entomopatogenicznych oraz wybranych właściwości badanych gleb. W jesiennym terminie prowadzonych badań stwierdzo-

no istotnie ujemny współczynnik korelacji między pH badanych gleb, a liczbą jednostek tworzących kolonię (CFU) grzybów z rodzaju *Lecanicillium* spp. ( $r = -0,640$ ).

W wiosennym terminie badań analiza współczynników korelacji prostej wykazała istotnie dodatnią korelację między zawartością azotu ogółem (Nt) a liczbą CFU z rodzaju *Metarhizium* spp. ( $r = 0,644$ ). Wybrane zależności przedstawiono w postaci wykresu i równań regresji (rys. 1, 2). Quesada-Moraga i wsp. (2007) badając gleby siedlisk naturalnych i gleby uprawne Hiszpanii stwierdzili, że grzyb *B. bassiana* dominował nad grzybem *M. anisopliae* w glebach o wyższej wartości pH oraz mniejszej zawartości materii organicznej. Analiza regresji wykazała, że pH badanych gleb było zmienną predykcyjną dla grzyba *B. bassiana*. Sharma i wsp. (2021) badając gleby pobrane z portugalskich plantacji winorośli stwierdzili, iż w glebach w których oznaczono wyższe wartości pH rozwój grzyba *B. bassiana* był intensywniejszy ( $p = 0,021$ ), natomiast wyższa zawartość azotu ogółem (Nt) ( $p = 0,007$ ) ograniczała występowanie grzyba *Metarhizium robersii*.

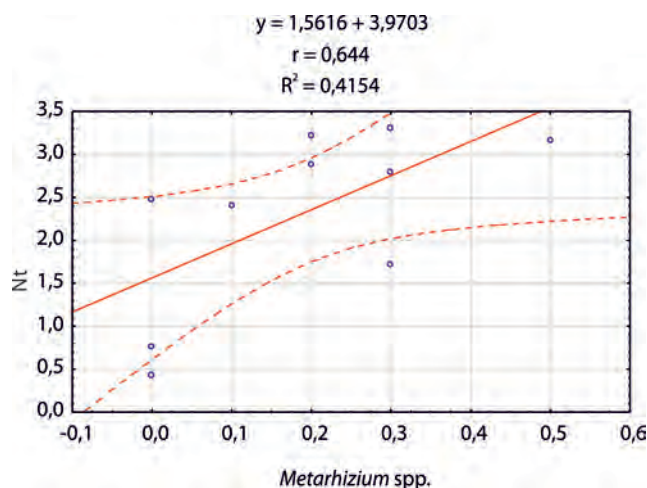
Gleby łąkowe cechują się bogatym składem gatunkowym grzybów będących patogenami owadów. Do podobnych wniosków doszli Miętkiewski i wsp. (1992), którzy stwierdzili większą różnorodność gatunkową grzybów entomopatogenicznych w glebach użytków zielonych niż w sąsiadujących z nimi gruntach rolnych. Jak twierdzi Natywa i wsp. (2014) jesienią na wzrost liczebności mikroorganizmów, a w tym grzybów entomopatogenicznych mogą mieć wpływ resztki roślinne, które stanowią źródło energii dla mikrobiota, natomiast wiosną, jak twierdzą m.in. Koper i Piotrowska (1999) czynnikami mającymi stymulujący wpływ na namnażanie mikroorganizmów jest odpowiednia temperatura i wilgotność gleby. Chen i wsp. (2021) stwierdzili, że środowisko glebowe ma istotny wpływ na różnorodność biologiczną oraz liczebność grzybów owadobójczych. Analizowane przez nich próby gleb łąkowych charakteryzowały się wysokim wskaźnikiem izolacji grzybów entomopatogenicznych wynoszącym 88% oraz wskaźnikiem bioróżnorodności 3,05 (wskaźnik Shannona-Wienera). Badania prowadzone przez Masoudi i wsp. (2020) w dwóch regionach geograficznych Chin (prowincja Hebei i Syczuan) wykazały, że próby gleb pobrane z lasów i łąk charakteryzowały się stosunkowo wysoką częstotliwością występowania grzybów z rodzaju *Metarhizium* i *Beauveria*.

Porównując (średnie) zagęszczenie jednostek tworzących kolonie (CFU) oznaczonych rodzajów grzybów entomopatogenicznych dla poziomów genetycznych, największe stwierdzono w poziomie darniowym z wyjątkiem grzybów z rodzaju *Lecanicillium* spp. (termin wiosenny). Najwięcej jednostek CFU (średnio) rodzaj ten wytworzył w poziomie murszu  $0,4 \cdot \text{CFU} \times 10^3 \text{ g}^{-1}$  gleby. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, iż poziom genetyczny



**Rys. 1.** Zależność pomiędzy pH 1 M KCl badanych gleb a liczbą jednostek tworzących kolonie [ $\text{CFU} \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ ] grzybów z rodzaju *Lecanicillium* spp. (jesień)  $\alpha < 0,05$

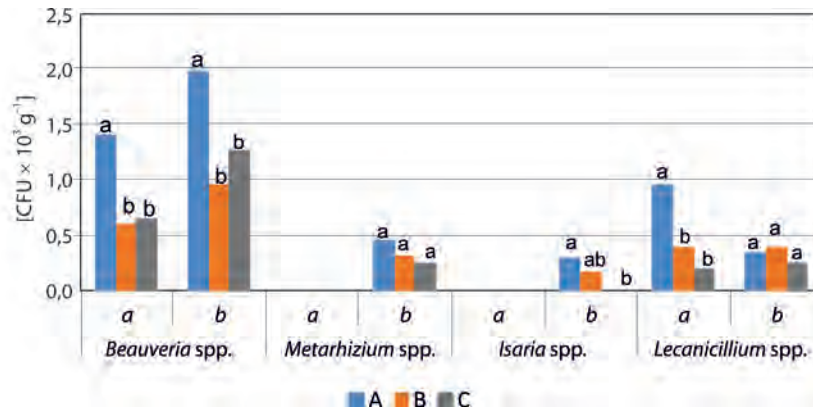
**Fig. 1.** The relationship between the pH 1 M KCl of the studied soils and the number of colony forming units [ $\text{CFU} \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ ] of fungi of the *Lecanicillium* spp. (autumn)  $\alpha < 0.05$



**Rys. 2.** Zależność pomiędzy Nt [%] badanych gleb a liczbą jednostek tworzących kolonie [ $\text{CFU} \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ ] grzybów z rodzaju *Metarhizium* spp. (wiosna)  $\alpha < 0,05$

**Fig. 2.** The relationship between the N-tot. [%] of the studied soils and the number of colony forming units [ $\text{CFU} \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ ] of fungi of the *Metarhizium* spp. (spring)  $\alpha < 0.05$

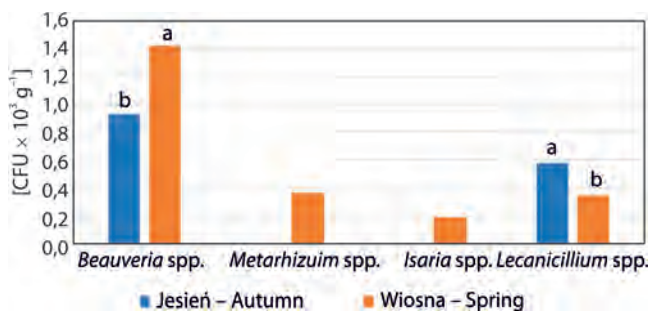
gleb był czynnikiem istotnie wpływającym na ilość jednostek tworzących kolonie grzybów entomopatogenicznych w odniesieniu do grzybów z rodzajów *Beauveria* spp., *Isaria* spp. oraz *Lecanicillium* spp. (rys. 3). Średnio więcej jednostek tworzących kolonie w odniesieniu do rodzaju *Beauveria* spp. stwierdzono w wiosennym terminie badań niż jesienią, natomiast w przypadku rodzaju *Lecanicillium* spp. w terminie jesiennym, a różnice te były istotne statystycznie (rys. 4).



A – poziom darniowy – turf level, B – mursz – rotting wood, C – poziom murszasty – mossy level,  
a – jesień – autumn, b – wiosna – spring

**Rys. 3.** Liczba jednostek tworzących kolonie grzybów entomopatogenicznych w oznaczonych poziomach organicznych gleb murszowo-glejowych w terminie jesiennym i wiosennym (średnia dla poziomów genetycznych)

**Fig. 3.** Number of units forming a colony of entomopathogenic fungi in the determined levels of organic muck-glial soils in autumn and spring (average for genetic levels)



**Rys. 4.** Średnia liczba jednostek tworzących kolonie oznaczonych rodzajów grzybów entomopatogenicznych w jesiennym i wiosennym terminie prowadzonych badań

**Fig. 4.** Average number of colony-forming units of the designated types of entomopathogenic fungi in the autumn and spring time of the research

## Wnioski / Conclusions

1. W glebach murszowo-glejowych doliny rzecznej Liwca występują grzyby entomopatogeniczne z rodzajów *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Isaria* spp. i *Lecanicillium* spp.

- Skład rodzajowy oraz nasilenie występowania grzybów owadobójczych w badanych glebach jest uzależniony od poziomu genetycznego oraz terminu poboru prób glebowych.
- Poziom genetyczny badanych gleb jest czynnikiem istotnie wpływającym na liczbę jednostek tworzących kolonie grzybów entomopatogenicznych w odniesieniu do rodzajów *Beauveria* spp., *Isaria* spp. i *Lecanicillium* spp.
- Rodzajem dominującym jest *Beauveria* spp., a poziomem genetycznym, w którym oznaczone grzyby występują najobficiej jest poziom darniowy z wyjątkiem izolacji *Lecanicillium* spp. wykonanej w terminie wiosennym.
- Termin poboru próby glebowej jest czynnikiem istotnie wpływającym na liczbę jednostek tworzących kolonie w odniesieniu do grzybów z rodzajów *Beauveria* spp. i *Lecanicillium* spp.
- Analiza współczynników korelacji prostej wykazała istotne korelacje między wartością pH badanych gleb a rodzajem *Lecanicillium* spp. oraz zawartością azotu ogółem a rodzajem *Metarhizium* spp.

## Literatura / References

- Augustyniak-Kram A. 2010. Organizmy pożyteczne w strategiach biologicznego zwalczania – grzyby owadobójcze. *Studia Ecologiae et Bioethicae* 8 (1): 45–54.
- Badura L. 2003. Problemy mikrobiologii gleby. [The problems of soil microbiology]. *Roczniki Gleboznawcze* 54 (1/2): 5–11.
- Balla A., Silini A., Cherif-Silini H., Chenari-Bouket A., Moser W.K., Nowakowska J.A., Oszako T., Benia F., Belbahri L. 2021. The threat of pests and pathogens and the potential for biological control in forest ecosystems. *Forests* 12 (11): 1579–1614. DOI: 10.3390/f12111579
- Bałazy S. 2004. Znaczenie obszarów chronionych dla zachowania zasobów grzybów entomopatogenicznych. *Kosmos* 53 (1): 5–16.

- Bałazy S. 2006. Rozpoznanie i próby oszacowania roli grzybów entomopatogenicznych w drzewostanach. *Studia i Materiały Centrum Edukacji Przyrodniczo-Leśnej R.* 8, 14 (4): 154–165.
- Becher M. 2013. Stan przeobrażenia materii organicznej gleb doliny górnego biegu rzeki Liwiec. *Rozprawa Naukowa nr 125.* Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach, Siedlce 158 ss.
- Bednarek R., Pokojaska U., Dziadowiec H., Prusinkiewicz Z. 2004. *Badania ekologiczno-gleboznawcze.* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 344 ss. ISBN 83-01-14216-2.
- Bischoff J.F., Rehner S.A., Humber R.A. 2006. *Metarhizium frigidum* sp. nov.: a cryptic species of *M. anisopliae* and member of the *M. flavoviride* complex. *Mycologia* 98 (5): 737–745. DOI: 10.3852/mycologia.98.5.737
- Bischoff J.F., Rehner S.A., Humber R.A. 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia* 101 (4): 512–530. DOI: 10.3852/07-202
- Chen W., Xie W., Cai W., Thaochan N., Hu Q. 2021. Entomopathogenic fungi biodiversity in soil of three provinces located in southwest China and first approach to evaluate their biocontrol potential. *Journal of Fungi* 7 (11): 984. DOI: 10.3390/jof7110984
- Dannon H.F., Dannon A.E., Douro-Kpindou O.K., Zinsou A.V., Houndate A.T., Toffa-Mehinto J., Elgbede I.A.T.M., Olou B.D., Tamo M. 2020. Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. *Journal of Cotton Research* 3: 24. DOI: 10.1186/s42397-020-00061-5
- Dembek W., Piórkowski H., Rycharski M. 2000. Mokrada na tle regionalizacji fizycznogeograficznej Polski. *Biblioteczka Wiadomości Instytut Melioracji i Użytków Zielonych* 97, 135 ss.
- Fiedler Ż., Sosnowska D., Baranowski T. 2002. Patogeny grzybowe i abamektyna w biologicznym zwalczaniu szkodników szklarniowych. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 42 (2): 420–423.
- Ginter A. 2021. Małe gospodarstwa rolne wobec wyzwań zrównoważonego rozwoju i Zielonego Ładu. *Monografia.* Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach, Siedlce, 174 ss. ISBN 978-83-66541-76-4.
- Gottwald T.R., Tedders W.L. 1984. Colonization, transmission, and longevity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on pecan weevil larvae (Coleoptera: Curculionide) in the soil. *Environmental Entomology* 13 (2): 557–560. DOI: 10.1093/ee/13.2.557
- Humber A.R. 2012. Identification of Entomopathogenic Fungi. Chapter VI. W: *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (L.A. Lacey, red.). Academic Press, London, 504 ss. ISBN 978-01-23868-99-2.
- Inglis G.D., Enkerli J., Goettel M.S. 2012. Laboratory Techniques Used for Entomopathogenic Fungi: Hypocreales. Chapter VII. W: *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (L.A. Lacey, red.). Academic Press, London, 504 ss. ISBN 978-01-23868-99-2.
- Jarmuł-Pietraszczyk J., Górska K., Kamionek M., Zawitkowski J. 2013. The occurrence of entomopathogenic fungi in the Chojnowski Landscape Park in Poland. *Animal Science* 52: 37–47.
- Jaworska M., Dudek B. 1992. Występowanie owadobójczych nicieni w glebach wybranych upraw. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie. Ogrodnictwo* 20: 131–147.
- Kalinowski M. 2021. Będą dotacje do biologicznych pestycydów. Jak wysokie będą dopłaty? *Tygodnik Poradnik Rolniczy.* <https://www.tygodnik-rolniczy.pl/>
- Kepler R.M., Luangsa-ard J.J., Hywel-Jones N.L., Quandt C.A., Sung G.H., Rehner S.A., Aime M.C., Henkel T.W., Sanjuan T., Zare R., Chen M., Li Z., Rossman A.Y., Spatafora J.W., Shrestha B. 2017. A phylogenetically-based nomenclature for *Cordycipitaceae* (Hypocreales). *IMA Fungus* 8 (2): 335–353. DOI: 10.5598/imafungus.2017.08.02.08
- Kessler P., Enkerli J., Schweize C., Keller S. 2004. Survival of *Beauveria brongniartii* in the soil after application as a biocontrol agent against the European cockchafer *Melolontha melolontha*. *Biocontrol* 49: 563–581. DOI: 10.1023/B:BICO.0000036441.40227.ed
- Kin P.K., Azami W.A., Kamarudin N., Ali S.R.A., Moslim R. 2017. The occurrence of entomopathogenic fungi on mineral and peat soils in peninsular Malaysia. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 12 (1): 1–12. DOI: 10.33844/ajabssp.2017.1.12
- Koper J., Piotrowska A. 1999. Aktywność enzymatyczna gleby jako parametr jej żyzności wywołany systemem uprawy. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 467 (1): 127–134.
- Kumar J., Ramalal A., Mallick D., Mishra V. 2021. An overview of some biopesticides and their importance in plant protection for commercial acceptance. *Plants* 10 (6): 1185–1196. DOI: 10.3390/plants10061185
- Lipa J. 2000. Obecne i przyszłe miejsce biologicznej i innych niechemicznych metod ochrony roślin. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 40 (1): 62–70.
- Masoudi A., Wang M., Zhang X., Wang C., Qiu Z., Wang W., Wang H., Liu J. 2020. Meta-analysis and evaluation by insect-metad baiting reveal different patterns of hypocrealean entomopathogenic fungi in the soils from two regions of China. *Frontiers in Microbiology* 11: 1133. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01133
- Miętkiewski R., Tkaczuk C., Zasada L. 1992. Występowanie grzybów entomopatogenicznych w glebie ornej i łąkowej. *Acta Mycologica* 27 (2): 197–203.
- Mioduszewski W. 2004. Problemy gospodarki wodnej w rolnictwie w kontekście Ramowej Dyrektywy Wodnej. *Światowy Dzień Wody.* Polska Akademia Nauk, Warszawa: 35–42.
- Mocek A., Drzymała S., Maszner P. 2000. *Geneza, analiza i klasyfikacja gleb.* Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego, Poznań, 418 ss. ISBN 978-83-7160-586-4.
- Natywa M., Selnet M., Maciejewski T. 2014. Wpływ wybranych czynników agrotechnicznych na liczebność i aktywność drobnoustrojów glebowych. *Fragmenta Agronomica* 31 (2): 56–63.
- Quesada-Moraga E., Navas-Cortés J.A., Maranhao E.A., Ortiz-Urquiza A., Santiago-Alvarez C. 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycological Research* 111: 947–966. DOI: 10.1016/j.mycres.2007.06.006
- Rehner S.A., Buckley E.P.A. 2005. *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- $\alpha$  sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia* 97 (1): 84–98. DOI: 10.3852/mycologia.97.1.84



- Rehner S.A., Minnis A.M., Sung G.H., Luangsa-ard J.J., Devotto L., Humber R.A. 2011. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. *Mycologia* 103 (5): 1055–1073. DOI: 10.3852/10-302
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 z dnia 21 października 2009 r. dotyczące wprowadzania do obrotu środków ochrony roślin i uchylające dyrektywy Rady 79/117/EWG i 91/414/EWG (Dz.U. L 309 z 24.11.2009, s. 1).
- Sharma L., Oliveira I., Gonçalves F., Raimundo F., Singh R.K., Torres L., Marques G. 2021. Effect of soil chemical properties on the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in portuguese grapevine fields. *Pathogens* 10 (2): 137. DOI: 10.3390/pathogens10020137
- Sosnowska D. 2005. Biopreparaty grzybowe w biologicznym zwalczaniu szkodników upraw szklarniowych i polowych. [Fungi biopesticides in biological control of greenhouse and field pests]. *Postępy Nauk Rolniczych* 52 (5): 17–27.
- Sosnowska D. 2013. Postępy w badaniach i wykorzystanie grzybów pasożytniczych w integrowanej ochronie roślin. [Progress in research and the use of pathogenic fungi in integrated plant protection]. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 53 (4): 747–750. DOI: 10.14199/ppp-2013-018
- Sosnowska D. 2018. Konserwacyjna metoda biologiczna wsparciem integrowanej ochrony roślin i rolnictwa ekologicznego. [The contribution of conservation biological control method to integrated plant protection and organic farming]. *Progress in Plant Protection* 58 (4): 288–293. DOI: 10.14199/ppp-2018-040
- Sosnowska D. 2019. Grzyby pasożytnicze i antagonistyczne w biologicznej ochronie roślin w Polsce. [Parasitic and antagonistic fungi in biological plant protection in Poland]. *Progress in Plant Protection* 59 (4): 223–231. DOI: 10.14199/ppp-2019-029
- Sosnowska D., Lindquist R.K. 1994. Wykorzystanie owadobójczego grzyba *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) i preparatu Margosan w biologicznym zwalczaniu wciornastka zachodniego (*Frankliniella occidentalis*, Pergande). *Ochrona Roślin* 38 (1): 2–3.
- Sosnowska D., Piątkowski J. 1996. Efficacy of entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* against whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) in greenhouse tomato cultures. *Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes* (P.H. Smits, red.). IOBC-WPRS Bulletin 19 (9): 179–182.
- Storey G.K., Gardner W.A., Tollner E.W. 1989. Penetration and persistence of commercially formulated *Beauveria bassiana* conidia in soil of two tillage system. *Environmental Entomology* 18 (5): 835–839. DOI: 10.1093/ee/18.5.835
- Strasser H., Forrer A., Schinner F. 1996. Development of media for the selective isolation and maintenance of virulence of *Beauveria brongniartii*. s. 125–130. W: *Microbial Control of Soil Dwelling Pests* (T.A. Jackson, T.R. Glare, red.). AgResearch, Lincoln, New Zealand.
- Tkaczuk C. 2008. Występowanie i potencjał infekcyjny grzybów owadobójczych w glebach agrocenoz i środowisk seminaturalnych w krajobrazie rolniczym. *Rozprawa Naukowa nr 94*. Wydawnictwo Akademii Podlaskiej, Siedlce, 160 ss.
- Tkaczuk C., Majchrowska-Safaryan A., Harasimiuk M. 2016. Występowanie oraz potencjał infekcyjny grzybów entomopatogenicznych w glebach z pól uprawnych, łąk i siedlisk leśnych. [The occurrence and infective potential of entomopathogenic fungi in the soil of arable fields, meadows and forest habitats]. *Progress in Plant Protection* 56 (1): 5–11. DOI: 10.14199/ppp-2016-001
- Van der Weerden N.L., Bleackley M.R., Anderson M.A. 2013. Properties and mechanisms of action of naturally occurring antifungal peptides. *Cellular and Molecular Life Sciences* 70 (19): 3545–3570. DOI: 10.1007/s00018-013-1260-1
- Vänninen I., Tyni-Juslin J., Hokkanen H.M.T. 2000. Persistence of augmented *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in Finnish agricultural soils. *BioControl* 45: 201–222. DOI: 10.1023/A:1009998919531
- Vega F.E., Goettel M.S., Blackwell M., Chandler D., Jackson M.A. 2009. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology* 2 (4): 149–159. DOI: 10.1016/j.funeco.2009.05.001